DOI:10.11931/guihaia.gxzw201903065

基于流式细胞术的乌饭树核 DNA 含量（2C-值）测定

黄婧[1]，张敏[1*]，林峰[2]，周鹏[1]，周洁[1]

(1. 江苏省林业科学研究院，南京 211153；2. 南京林业大学，南京 210037）

摘要：核 DNA 含量（2C-值）是描述植物生物多样性的一个重要特征参数。本试验利用流式细胞仪检测越橘属植物乌饭树核 DNA 含量。建立了适合乌饭树基因组的流式细胞术测定方法：以野生乌饭树的嫩叶为材料，以已知核 DNA 含量的水稻品种‘日本晴’为内标，采用 GPB 解离液，细胞核悬液加入 50 μL·mL^{-1} 碘化丙啶染色 5 min 即可上机检测。9 个乌饭树单株的核 DNA 含量平均值为 1.22±0.03 pg，最小值为 1.18 pg，最大值为 1.27 pg。检测结果与已知的越橘属二倍体植株的 2C-值含量相似，且不同地理来源的单株 DNA 含量没有显著差异（*P*>0.05），推测这 9 个单株为二倍体植株。本研究测定的乌饭树核 DNA 含量（2C-值）可丰富越橘属植物的 C-值库；基于流式细胞术建立的乌饭树核 DNA 含量测定方法可为该属其他植物的相关研究提供借鉴。

关键词：乌饭树，核 DNA 含量，2C-值，流式细胞术

中图分类号：Q946　　　　　　**文献标识码**：A

Determination of nuclear DNA content (2C-value) of *Vaccinium bracteatum* by flow cytometry

Huang Jing[1], Zhang Min[1*], Lin Feng[2], Zhou Peng[1], Zhou Jie[1]

(1. *Jiangsu Academy of Forestry*, Nanjing 211153; 2. *Nanjing Forestry University*, Nanjing 210037)

Abstract: The plant nuclear DNA content (2C-value) is a principal characteristic parameter to describe biodiversity of plant species. For better understanding the nuclear DNA information of this plant, the nuclear DNA content of *Vaccinium bracteatum* wild plants were estimated by flow cytometry (FCM). In order to establish the optimal FCM method, young fresh leaves were taken as samples, and *Oryza sativa* subsp. *japonica* ‘Nipponbare’ with known nuclear DNA content was set as internal standard. The nucleus of the mixed leaf cells was isolated by GPB dissociation solution and stained with 50 μL·mL^{-1} propidium iodide (PI) with 5 min, then the PI emission fluorescence intensity was measured by flow cytometry. The results showed that the average nuclear DNA content of nine *V. bracteatum* plants is 1.22 pg±0.03, the minimum value is 1.18 pg and the maximum is 1.27 pg. The results are similar to the nuclear DNA content of the known diploid plants of *Vaccinium*, and there is no significant difference in DNA content of plants from different geographical origins (*P*>0.05). It is speculated that these nine *V. bracteatum* plants are diploid plants. The detected nuclear DNA contents (2C-value) of *V. bracteatum* can enrich the

---

基金项目：中央财政林业科技推广示范资金项目(苏[2019]TG02)；江苏省林业科学研究院青年科技基金项目(JAF-2016-07)[Supported by Forestry Science and Technology Promotion Demonstration Foundation of Central Finance(Su[2019]TG02)；Youth Science and Technology Foundation of Jiangsu Forestry Research Institute（JAF-2016-07）]。

作者简介：黄婧（1987-），女，博士，助理研究员，主要从事植物遗传学研究，（E-mail）694286338@qq.com。

[*]**通信作者**：张敏，博士，研究员，主要从事林木花卉生理生化和组织培养研究，（E-mail）29157510@qq.com。

C-value database of *Vaccinium*. The nuclear DNA content detection method established based on FCM for *V. bracteatum* can provide reference for related research of other *Vaccinium* species.
Key words: *Vaccinium bracteatum*, nuclear DNA content, 2C-value, flow cytometry

真核生物体细胞核中，染色体组数和 DNA 含量保持一定的数值，为了将 DNA 含量与染色体数目相区分，Swift et al.（1950）提出了 C-值（C-value）的概念，C-值是指真核生物细胞中，没有复制的单倍体细胞核（无论倍性水平）所含的 DNA 总量。C-值的单位可以用皮克（pg，1 pg=10^{-12} g）表示，1 pg DNA 代表 0.978×10^{9} 碱基对（base pairs，bp）（Dolezel et al., 2003）。C-值是植物的一项重要特征参数，与生物体的细胞大小、寿命、光合速率等生理参数有一定的相关性（Beaulieu et al., 2007），同时 C-值具有种的特征，也与植物的种群进化、遗传信息总量等有密切关系，因此对植物的 C-值进行研究有重要意义。目前，植物 C-值数据库（http://data.Kew.org/cvalues/）包含超过 8 500 个种的数据，包括被子植物、裸子植物，蕨类，苔藓，以及藻类的 C-值数据，方便科研工作者查询与分析。

核 DNA 含量一般被称为含有 2C 的 DNA 含量（Dolezel & Bartos, 2005），这是由于在有丝分裂间期，细胞核含有两份未复制的基因组拷贝。核 DNA 含量的测定方法主要有化学分析法，复性动力学法，孚尔根染色法（feulgen microdensitometry），流式细胞术（Flow cytometry，FCM）等方法。化学分析法和复性动力学法现在已经很少被使用了；孚尔根染色法操作复杂且结果不够稳定（Moscone, 2003）。1983 年 Science（Galbraith et al., 1983）报道了应用流式细胞术测定植物细胞周期检测和细胞核 DNA 含量的研究，开辟了流式细胞术应用于植物研究的先河。流式细胞仪（Flow Cytometer）操作方便迅速，结果准确可靠，目前被广泛应用于植物 C-值的测定中（金亮等，2016），其工作原理是利用特殊的荧光染料与 DNA 碱基结合，通过激光照射被荧光染料染色的细胞会发射出荧光，由于荧光强度与 DNA 含量成正比的原理，通过测定细胞的荧光强度即可推算出样本细胞的 DNA 含量。由于不同植物、组织中的细胞内含物和次生代谢物质不同，针对不同研究对象，采用适合的细胞核提取液配方、提取和染色方法是流式细胞术的应用难点。

目前，利用流式细胞术已经测定了越橘属 7 个种的核 DNA 含量（Costich et al., 1993），分别是：旱地蓝莓（*Vaccinium pallidum*）1.21 pg，北方越橘（*Vaccinium. boreale*）1.18 pg，蓝莓‘埃利奥特’（ *Vaccinium elliottii*）1.26 pg，加拿大蓝莓（*Vaccinium myrtilloides*）1.26 pg，南方蓝莓（*Vaccinium tenellum*）1.30 pg，蓝莓‘达柔’（*Vaccinium darrowi*）1.31 pg，北高丛蓝莓（*Vaccinium corymbosum*）1.33 pg。然而尚无关于越橘属植物乌饭树核 DNA 含量的研究报道。乌饭树（*Vaccinium bracteatum* ）又名南烛，古称染菽，是属于越橘属的常绿灌木。在我国主要分布在浙江、福建、江西、湖南、江苏和台湾等丘陵地带。乌饭树具有很高

的营养价值和保健功能（Lee et al., 2014），亦是不可多得的盆景及园林绿化树种。乌饭树作为一种特色保健乡土树种，具有极高的开发利用价值，但是其基因与基因组层面的研究甚少，严重限制了种质资源的利用和育种进程。本试验摸索乌饭树的流式细胞术测定方法，检测乌饭树野生单株的核 DNA 含量，并分析基因组倍性情况以及核 DNA 含量变化与种质地理来源之间的关系，以期为乌饭树的种质资源研究、倍性育种和基因组学提供参考。

1 材料与方法

1.1 植物材料

本实验以来自 3 个省份的 9 个野生乌饭树单株为研究对象，其来源省份见表 1。以植物鲜嫩叶片为材料，标准植物水稻‘日本晴’（*Oryza sativa* subsp. *japonica* ‘Nipponbare’, 2C=0.795）（Sasaki & Burr, 2000）为内部标样。

表 1 乌饭树单株的地理来源

Table 1 The geographical sources of *Vaccinium bracteatum* plants

省份 Province	城市 City	编号 Sample Number
江苏 Jiangsu	宜兴 Yixing	1
	溧阳 Liyang	4，5
	无锡 Wuxi	6
湖南 Hunan	常德 Changde	2
	白云山 Baiyunshan	3
江西 Jiangxi	赣州 Ganzhou	7，8，9

1.2 标本制作

1.2.1 解离液选择与荧光染料配制

采用 LB01、Galbraith’s、WPB、GPB 和 Tris-$MgCl_2$5 种配方进行试验，找出测定乌饭树基因组的最佳解离液配方。配制碘化丙啶 PI 染色液（50 $\mu L \cdot mL^{-1}$，含 RNA 酶），4 ℃保存。

1.2.2 细胞核悬液制备与 DNA 特异性染色

制备待测样、标样、待测样+标样混合的细胞核悬液。取待测样品和标样嫩叶各 50 mg，一起放入置于冰上的塑料平皿中，加入 1 mL 预冷的解离液，用锋利刀片迅速切碎叶片。使用移液枪吸取塑料平皿中的解离液（弃去碎材料），置于 1.5 mL EP 管，用孔径为 40 μm 无

菌注射式过滤器过滤，得滤液至新管内，置于冰中孵育 5 min。于 4 ℃下，800 r/min 离心 5 min，小心吸取上清置新管中。再加入 500 μL 配置好的 PI-Rnase 染液，避光染色 5~10 min。另取待测样品、标样的嫩叶各 50 mg，按照同样的方法分别备至细胞核悬液作为空白对照，空白对照以同样的方法进行染色。将制备好的经染色的细胞核悬液转入标准上样管中，上机测定。

1.3 流式细胞仪检测及分析

利用 BD Influx^{TM} 流式细胞仪对经染色后的细胞核悬液样品上机检测，采用 488 nm 的激光激发，收集 670/30 通道的荧光，检测荧光强度。每个待测样品收集约 10 000 个细胞，每管样品测试 3 次，并在不同日期进行 2 次重复，取平均值计算。

使用仪器自带软件进行作图分析。已知核 DNA 含量的水稻‘日本晴’的实生幼苗为参照样本，按照以下公式计算得到待测样品的核 DNA 含量，其中 G_0/G_1 峰的变异系数（coefficient of variation，*CV*，*CV*%=标准差/平均值×100），*CV* 值大于 5 %的结果予以舍弃（Arumuganathan & Earle, 1991a）。并根据 1 pg DNA =978 Mp，计算乌饭树的基因组大小。

2 结果预分析

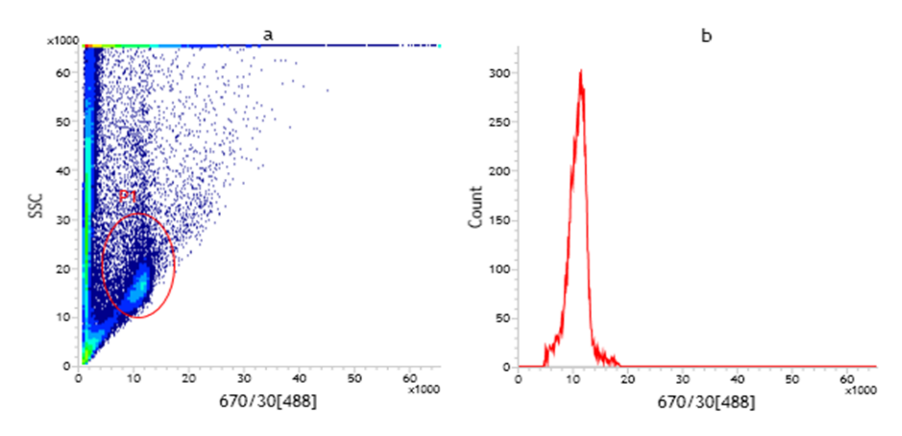
2.1 解离液的选择

由于不同解离液对不同植物的解离效果存在明显差异，在乌饭树核 DNA 含量检测前，比较 5 种植物常用的解离液（LB01、Galbraith’s、WPB、GPB 和 Tris-$MgCl_2$）对乌饭树叶片的解离效果。发现 GPB 解离液对乌饭树和水稻叶片细胞核的解离效果最佳，其细胞核悬液的浓度较高，上机检测能得到较好的荧光信号：噪音少、峰形佳、面积相对较大，变异系数控制在 5%左右。因此，本研究采用 GPB 解离液制样进行测试。

2.2 待测样品的荧光强度范围确定

为了便于控制试验方法误差，试验采用内标法进行测定，经查询、比较常用的植物标样和部分越橘属植物的 2C-值后，选择水稻‘日本晴’作为标准样品。以标样水稻‘日本晴’、各个乌饭树样本单独上机检测，通过观察流式细胞术检测图中峰的位置，初步确定标样与待测样本的荧光强度范围。在同一检测模板下，水稻‘日本晴’的荧光强度峰值在 10 000 附近（图 1），乌饭树的荧光强度峰值在 17 000 附近（图 2）。由于细胞核的荧光强度与核 DNA 含量成正比，说明水稻‘日本晴’的核 DNA 含量小于乌饭树；同时可以推测，在下

一步混合样本的流式细胞术检测图中，代表水稻的峰应位于流式细胞术检测图的左侧，而代表乌饭树样品的峰应位于图的右侧。



注：图 a、b 的横坐标代表 670/30 通道（488 nm 激光）的相对荧光强度/×10^3，纵坐标分别代表侧向散射光（SSC）粒子数（图 a）和细胞计数（图 b）。下同。

Note: The abscissas of Figures a and b represent the relative fluorescence intensity of the 670/30 channel (488 nm laser) / × 10^3, and the ordinate represents the number of side scatter (SSC) light particles and the cell count respectively. The same below.

图 1 水稻‘日本晴’的流式细胞术检测分析结果

Fig.1 FCM detection analysis for *Oryza sativa* subsp. *japonica* ‘Nipponbare’

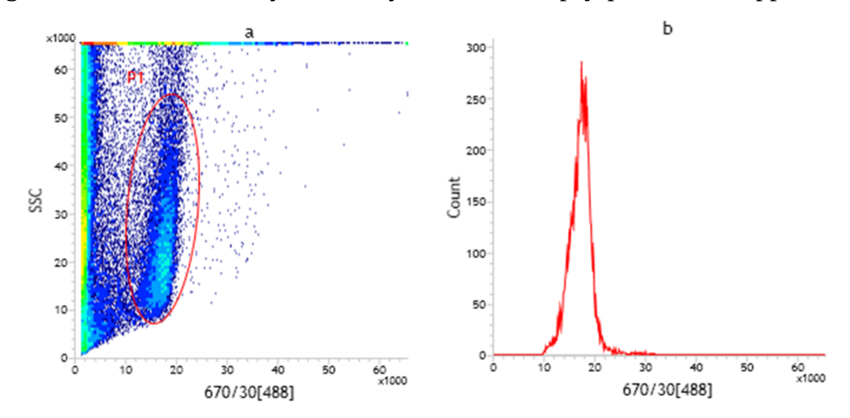
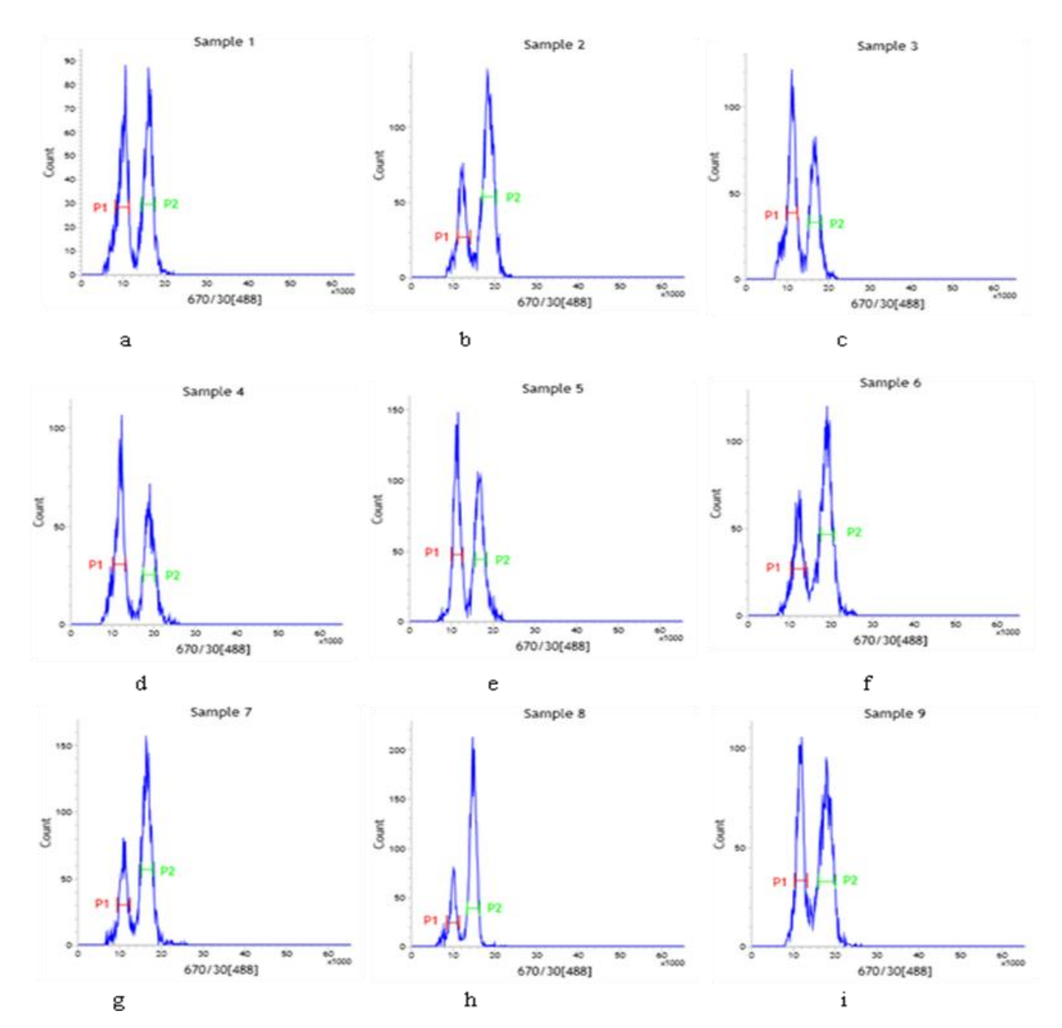


图 2 乌饭树的流式细胞术检测分析结果

Fig.2 FCM detection analysis for *Vaccinium bracteatum*

2.3 乌饭树核 DNA 含量（2C-值）的测定结果

分别将 9 份乌饭树测试样本与水稻标样的混合样本上机测试，测试结果如图 3 所示，水稻与乌饭树混样的主峰区分度良好，均清晰且无重叠，说明本试验方法准确可行。分别比较各乌饭树测试样本与水稻标样的 G_0/G_1 期峰值相对位置，图中左侧的 P1 峰代表标样水稻‘日本晴’的荧光强度，右侧的 P2 峰代表乌饭树测试样本的荧光强度。



注：图 a-i 代表乌饭树样本 1~9；图 a-i 的横坐标表示 670/30 通道（488nm 激光）的相对荧光强度/×10^3，纵坐标表示细胞计数；图 a-j 中 P1 代表水稻的 G0/G1 期峰，P2 乌饭树的 G0/G1 期峰。

Note: Figs. a-i represents the nine samples of *Vaccinium bracteatum*; In Figs. a-i, the abscissa of histogram represents the relative fluorescence intensity of the 670/30 channel (488 nm laser) / × 10^3, and the ordinate represents the cell count; In Figs. a-i, P1 represents the G0/G1 phase peak of *Oryza sativa* subsp. *japonica* ‘Nipponbare’, and P2 represents the G0/G1 phase peak of *Vaccinium bracteatum*.

图 3 水稻‘日本晴’与 9 个乌饭树单株混合样本的流式细胞仪测定结果

Fig.3 FCM detection analysis for mixed samples of *Oryza sativa* subsp. *japonica* ‘Nipponbare’ and nine *Vaccinium bracteatum* samples

乌饭树测试样品的核 DNA 含量（2C-值）见表 2，9 个样本的平均核 DNA 含量（2C-值）为 1.22 pg，标准差为 0.03，最大的是样本 6 号为 1.27 pg，最小的是样本 5 号为 1.18 pg。经单因素方差分析（表 3），不同省份的野生单株之间核 DNA 含量无显著差异（P>0.05），说明乌饭树核 DNA 含量没有因地理分布不同而产生进化差异。检测结果与已知的二倍体越橘品种的核 DNA 含量（1.18~1.31 pg）相似，且前人的研究表示三、四倍体越橘品种的核 DNA 含量显著大于二倍体（P<0.05）（Costich et al., 1993），因此，推测本试验鉴定的 9 个单株均为二倍体植株。

一般认为植物 DNA 1 pg 相当于 978 Mb。本试验测得乌饭树核 DNA 含量（2C-值）为 1.22±0.03 pg，推测乌饭树基因组大小约为 1194.39±29.07 Mb。

表 2 乌饭树单株的核 DNA 含量（2C-值）

Table 2 Nuclear DNA contents（2C-value） of nine *V. bracteatum* samples

	样本 1 Sample 1	样本 2 Sample 2	样本 3 Sample 3	样本 4 Sample 4	样本 5 Sample 5	样本 6 Sample 6	样本 7 Sample 7	样本 8 Sample 8	样本 9 Sample 9	平均值 Average
核 DNA 含量 Nuclear DNA content(pg)	1.25	1.21	1.20	1.25	1.18	1.27	1.22	1.19	1.23	1.22±0.03
基因组大小 Genome size(Mb)	1 218.65	1 184.74	1 174.65	1 221.33	1 150.49	1 238.40	1 192.91	1 163.08	1 205.29	1 194.39±29.07

表 3 不同地理来源的植物单株的核 DNA 含量间的方差分析

Table 3 ANOVA testing for the differences in nuclear DNA contents of samples from different provinces

种源省份 Province	数量 *n*	平均值 $\bar{x}\pm s$	*F* 值 *F*	*P* 值 *P*
江苏 Jiangsu	4	1.237 5±0.039 48		
湖南 Hunan	2	1.205 0±0.007 07	0.946	0.439
江西 Jiangxi	3	1.213 3±0.020 82		

3 讨论

本研究首次利用流式细胞术检测乌饭树核 DNA 含量（2C-值）。测试得到乌饭树野生单株核 DNA 含量（2C-值）平均值为 1.22±0.03 pg，基因组大小约为 1 194.39±29.07 Mb。检测单株与越橘属二倍体品种的核 DNA 含量近似，且不同省份来源的野生单株的核 DNA 含量无显著差异（P>0.05），推测供试单株均为二倍体植株。本研究旨在为乌饭树基因组学研究、遗传多样性研究和育种工作奠定基础。

流式细胞术根据样本的相对荧光强度来分析其 DNA 含量，是一种快速准确鉴定植物基因组大小及倍性的方法。前人利用流式细胞术检测越橘属植物 2C-值时使用的解离液（Arumuganathan & Earle, 1991a）和外标样品（Costich et al., 1993）（虹鳟鱼红细胞），目前已不常在植物研究中使用，因此本研究自行摸索了乌饭树的流式细胞术试验方法。最终采用水稻‘日本晴’作为内标，选择 GPB 解离液，使用红色或鲜绿色的乌饭树鲜叶制备细胞

悬浮液，经 50 μL·mL^{-1} PI 溶液染色 5 min 即可上机检测。该方法相比于前人对越橘属植物的测定方法简化了许多，结果重复性较好，*CV* 值控制在 5%，可为本属其它植物的流式细胞术研究提供参考。

本试验随机挑选了分布在江苏、湖南、江西的 9 个单株，检测结果均为二倍体植株。这与越橘属其它植物的基因组特性（孙海悦和张亚东，2014）有类似之处，生长在美国东南部温暖湿润地区的常绿越橘（*Vaccinium darrowi*）、兔眼越橘（*Vaccinium virgatum*）小穗越橘（ *Vaccinium tenellum*）都是二倍体植株（2n=2x=24）；生长在严寒地区的北高丛蓝莓、矮丛越橘（狭叶越橘为主）品种多是四倍体植株（2n=4x=48）。乌饭树与其他越橘属植物的分布范围不同，目前只发现生长在温暖湿润的地区，尤其是丘陵地带或海拔 400-1400 米的山地（郝娟娟，2010），结合本试验的结果，推测乌饭树可能是二倍体植物。但由于试验检测的乌饭树单株数量较少，尚不能确定乌饭树是否存在三、四、六倍体，还需要检测更多植株，尤其是生长量大、株高较高，以及生长在低温地区的植株。同时，在今后的育种工作中，可以利用乌饭树的耐热和低冷温需要量基因，对耐冷的北方的越橘品种进行改良，扩大其种植适应范围，也保留其品种的优良性状。

越橘属植物种类繁多，并且经过长期的自然选择，遗传变异丰富，前人研究发现，越橘属不同倍性植株的核 DNA 含量大小存在显著差异（P<0.05），甚至在二倍体品种之间也存在一定差异（Costich et al., 1993），这种现象在其他植物中也被证实存在（林峰等，2017；吴丽萍等，2013；陈丙以等，2015）。本研究中不同省份的乌饭树二倍体单株核 DNA 含量没有显著差异（P>0.05），暗示这些乌饭树的核 DNA 含量可能没有受到地理环境影响而发生遗传进化。但对于不同地理环境是否造成种群遗传进化差异，仅根据本次试验结果，尚无法得出确定的结论，可以进一步利用分子标记开展不同种源种质的遗传多样性的研究，以期了解乌饭树种质的遗传进化进程。

根据植物 C-值大小的 5 个等级（Leitch et al., 1998; Soltis et al., 2003）划分，乌饭树属于“很小（1C-值≤1.4 pg）”的植物；利用测得的二倍体单株的核 DNA 含量预测，乌饭树基因组大小约为 1 194.39 ±29.07 Mb。对照前人的研究结果（Arumuganathan & Earle, 1991b），估计乌饭树基因组大小是拟南芥的 4 倍，玉米的 1/5，番茄的 1/2，远大于木瓜、芒果、杏、樱桃、橙和覆盆子等水果植物。该结果能够为乌饭树基因组的研究提供一些依据。

目前，国内尚无关于乌饭树核 DNA 含量的研究报道，本研究结果可以丰富越橘属植物的 C-值库，基于流式细胞术建立的乌饭树核 DNA 含量测定方法可为加快越橘属植物的相关研究提供借鉴。

参考文献：

ARUMUGANATHAN K, EARLE E D, 1991a. Estimation of nuclear DNA content of plants by bow cytometery [J]. Plant Mol Biol Rep, 9(3):229-241.

ARUMUGANATHAN K, EARLE E D, 1991b. Nuclear DNA content of some important plant species [J]. Plant Mol Biol Rep, 9(3):208-218.

BEAULIEU JM, LEITCH IJ, KNIGHT CA, 2007. Genome size evolution in relation to leaf strategy and metabolic rates revisited [J]. Ann Bot, 99(3):495-505.

CHEN BY, LI JF, HUO HZ, et al., 2015. Estimation of genome size in six wild strawberry species [J]. J Fruit Sci, (1):51-56.[陈丙义，李金凤，霍恒志，等, 2015. 6 种野生草莓基因组大小估算 [J]. 果树学报, (1):51-56.]

COSTICH D E, ORTIZ R, MEAGHER TR, et al., 1993. Determination of ploidy level and nuclear DNA content in blueberry by flow cytometry [J]. TAG, 86(8):1001-1006.

DOLEZEL J, BARTOS J, VOGLMAYR H, et al., 2003. Nuclear DNA content and genome size of trout and human [J]. Cytom Parta, 51(2):127-128.

DOLEZEL J, BARTOS J, 2005. Plant DNA Flow Cytometry and estimation of nuclear genome size [J]. Ann Bot, 95(1):99-110.

GALBRAITH DW, HARKINS KR, MADDOX JM, et al., 1983. Rapid Flow Cytometric Analysis of the Cell Cycle in Intact Plant Tissues [J]. Science, 220(4601):1049-51.

HAO JJ, 2010. A preliminary study on *Vaccinium bracteatum* Thunb. germplasm collection and utilization technology [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University. [郝娟娟, 2010. 乌饭树种质资源收集与利用的初步研究 [D]. 南京：南京林业大学.]

JIN L, XU WW, LI XB, et al., 2016. Application of DNA flow cytometry to plant genetics and breeding [J]. Chin J Cell Biol, (2):225-234.[金亮，徐伟韦，李小白，等, 2016. DNA 流式细胞术在植物遗传及育种中的应用 [J]. 中国细胞生物学学报, (2):225-234.]

LEE S, JUNG ES, DO SG, et al., 2014. Correlation between species-specific metabolite profiles and bioactivities of blueberries (*Vaccinium* spp.) [J]. J Agr Food Chem, 62(9): 2126-2133.

LEITCH IJ, CHASE MW, BENNETT MD, 1998. Phylogenetic analysis of DNA C-values provides evidence for a small ancestral genome size in flowering plants [J]. Ann Bot, 82:85-94.

LIN F, ZHOU X Y, XU LI, et al., 2017. Estimation of genomic C value in several species of *Salvia* [J]. Chin J Agric Biotechol, 25(10):1622-1628.[林峰，周翔宇，徐莉，等, 2017. 几种鼠尾草属植物基因组 C 值测定 [J]. 农业生物技术学报, 25(10):1622-1628.]

MOSCONE EA, 2003. Analysis of nuclear DNA content in *Capsicum* (Solanaceae) by flow cytometry and feulgen densitometry [J]. Ann Bot, 92(1):21-29.

SASAKI T, BURR B, 2000. International Rice Genome Sequencing Project: The effort to completely sequence the rice genome [J]. Curr Opin Plant Biol, 3(2):138-141.

SOLTIS DE, SOLTIS PS, BENNETT MD, et al., 2003. Evolution of genome size in the angiosperms [J]. Am J Bot, 90(11):1596-1603.

SUN HY, LI YD, 2014. Overview of blueberry breeding in the world [J]. J NE Agric Univ, (9):116-122. [孙海悦，李亚东, 2014. 世界蓝莓育种概述[J]. 东北农业大学学报, (9):116-122.]

SWIFT H, 1950. The constancy of desoxyribose nucleic acid in plant nuclei [J]. PNAS, 36(11):643-654.

WU LP, TANG Y, LI YY, et al., 2013. Estimation of genome size of *Ziziphus jujube* and *Z. acdiojujuba* [J]. J Beijing For Univ, 35(3):77-83.[吴丽萍，唐岩，李颖岳，等, 2013. 枣和酸枣基因组大小测定 [J]. 北京林业大学学报, 35(3):77-83.]